DOI:10.11931/guihaia.gxzw201712033

植物凝胶和蔗糖对橡胶树体胚植株再生的影响

顾晓川[1]，徐正伟[1]，成镜[1]，何兴辉[2]， 华玉伟[1*]

（1 中国热带农业科学院橡胶研究所，农业部橡胶树生物学与遗传资源利用重点实验室，海南 儋州 571737；

2.海南天然橡胶产业集团股份有限公司龙江分公司，海南 白沙 572818）

摘要：植物凝胶和蔗糖对体胚植株再生和生长具有很大影响。本研究以巴西橡胶树无性系热研 7-33-97 成熟体细胞次生双子叶胚状体为材料，以添加 0.23 μmol•L^{-1} KT，0.11 μmol•L^{-1} IAA 和 8.7 μmol•L^{-1} GA3 的 MS 培养基为植株再生培养基，研究添加不同用量的植物凝胶和蔗糖，对巴西橡胶树体胚植株再生和生长的影响。结果显示：在橡胶树体细胞胚植株再生培养基中，不同用量的植物凝胶对植株再生频率和植株生长状况具有显著影响，较低浓度时（0-1 g•L^{-1}），随着用量增加，植株再生频率提高，但是，较高浓度时（1-4 g•L^{-1}），随着用量增加，植株生长受到抑制。植物凝胶添加 1 g•L^{-1} 时植株生长最好，植株再生率达到 86.4±5.7%，株高 5 cm 以上占 53±9.4%，带叶植株达 81.7±3%；而蔗糖对植株再生频率影响不显著，但显著影响再生植株的生长，低蔗糖时（20-30 g•L^{-1}）促进植株抽叶但抑制茎秆伸长，高蔗糖时（70-80 g•L^{-1}）显著抑制抽叶但促进茎段伸长。蔗糖添加 50 g•L^{-1} 时植株生长最好，株高 5 cm 以上占 57.6±5.4%，株高 5 cm 以上带叶植株占 46.3±12.3%，均为最高, 且从外观来看，在 50 g•L^{-1} 时植株茎干和根都较为粗壮。因此，在橡胶树体细胞胚植株再生培养基中，植物凝胶和蔗糖最佳用量分别为 1 g•L^{-1} 和 50 g•L^{-1}。

关键词：植物凝胶，蔗糖，胚状体，橡胶树，植株再生

Effects of Phytagel and sucrose on the regeneration efficiency of somatic embryos and growth of regenerated plants in *Hevea brasiliensis*

GU Xiao-Chuan[1], XU Zheng-Wei[1], CHENG Jing[1], HE Xing-Hui[2], HUA Yu-Wei[1*]

（1. *Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Rubber Tree, Ministry of Agriculture, Rubber Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences,* Danzhou 571737, Hainan, China;

2. *Longjiang Branch, China Hainan Rubber Industry Group Co., Ltd.*, Baisha 572818, Hainan, China）

Abstract: Phytagel and sucrose have great influence on the regeneration efficiency of somatic embryos and growth of regenerated plants. In this study, effects of Phytagel and sucrose on the regeneration of somatic embryos and growth of regenerated plants were carried out on mature cotyledonary embryos from rubber tree clone Reyan7-33-97. MS medium supplemented with 0.23 μmol•L^{-1} KT, 0.11 μmol•L^{-1} IAA and 8.7 μmol•L^{-1} GA3 was used as the plant regeneration medium. The results showed that appropriate Phytagel was helpful for the regeneration efficiency of somatic embryos and growth of regenerated plants. At lower concentrations (0-1 g•L^{-1}), the frequency of plant regeneration increased with the increase in the amount of Phytagel, but at higher concentrations (1-4 g•L^{-1}), along with the Phytagel with increasing amounts, plant growth was inhibited. When the Phytagel was supplemented in somatic embryo regeneration medium with 1 g•L^{-1}, the plant regeneration rate, the plants (height >5 cm) and the plants with leaves reached 86.4 ± 5.7%, 53 ± 9.4% and 81.7 ± 3%, respectively, higher than other treatments; For sucrose, no effects on the regeneration efficiency of somatic embryos was

基金项目：中国热带农业科学院基本科研业务费专项基金（1630022016002, 1630022014001）[Supported by Fundamental Scientific Research Funds of Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences]。

作者简介：顾晓川（1984-），男，籍贯河南省南乐县，硕士，助理研究员，从事组培与转基因育种研究，(E-mail)guxiang28@163.com。

*通讯作者：华玉伟（1977-），博士，研究员，从事组培与转基因育种研究，(E-mail)zhongzhiziyuan@163.com。

observed when sucrose was supplemented in somatic embryo regeneration medium, however, significant effects on growth of regenerated plant was observed. When the sucrose was supplemented in somatic embryo regeneration medium with 50 g•L^{-1}, the plants (height >5 cm) and the plants with leaves (height >5 cm) reached 57.6±5.4% and 46.3±12.3%, respectively, higher than other treatments. Moreover, lower sucrose (20-30 g•L^{-1}) promoted the growth of leaves as plant sprouting, but the elongation of stem was supressed, in contrast, higher sucrose (70-80 g•L^{-1}) suppressed the growth of leaves but promoted the elongation of the stem. Overall, the somatic embryo regenaration medium supplimented with 1 g•L^{-1} Phytagel and 50 g•L^{-1} Sucrose was the most approciate medium for somatic embryo regenaration in *Hevea brasiliensis*.

Key words: Phytagel, Sucrose, Embryos, Rubber tree, Plant regeneration

天然橡胶是重要的战略物资和工业原料。目前天然橡胶主要来源于巴西橡胶树胶乳，不同橡胶树种植材料胶乳产量具有显著差异。橡胶树体胚苗是以高产品种花药或内珠被等为外植体，由体细胞胚直接繁育而来的新型种植材料。1978 年我国科学家王泽云在世界上首次培育出体胚苗植株（王泽云等，1980），同时，国内外大田数据显示体胚苗是一种幼态化的种植材料，在产量、抗性、一致度等方面都优于橡胶树第一代种植材料（实生种子苗）和第二代种植材料(老态芽接苗)（王泽云等，2001；陈雄庭等，2002），是具有推广应用前景的第三代种植材料。2007 年华玉伟等首次通过体细胞胚循环增殖，实现了体细胞胚的大规模繁殖（华玉伟等，2007；Hua et al，2010）。

培养基成份、培养基渗透势、体细胞胚的状态和萌发前的物理处理等因素，均影响体细胞胚植株再生和植株生长，其中凝固剂和碳水化合物直接影响培养基的渗透势，对体胚植株再生和生长具有显著影响。较高琼脂浓度增强培养基保水能力，限制胚状体对水分的吸收，使胚状体含水量下降，从而起到提高胚再生植株频率的作用，同时，较高浓度琼脂可降低试管苗的玻璃化（袁素霞等，2010）。另外，植物凝胶种类和浓度也影响到培养基中镁、钙、锌、锰、钾离子的有效含量，进而影响体细胞胚植株再生和植株生长（Li et al，1998）。而蔗糖作为一种渗透调节剂和能量，对体胚成熟和再生也具有显著影响。Becwar et al（1995）认为促进体细胞胚萌发的关键是将胚转入低蔗糖无激素的萌发培养基上，同样，龙眼体胚植株再生时，高浓度的蔗糖有利于体胚成熟，低浓度蔗糖利于体胚植株再生（赖钟雄和陈振光，2002）。

目前尚未看到植物凝胶和蔗糖对橡胶树体细胞胚植株再生和植株生长影响的研究，为此，本研究在橡胶树体胚植株再生培养基中添加不同用量的植物凝胶和蔗糖，研究它们对植株再生和生长影响的同时，以期筛选巴西橡胶体胚植株最为适合的植物凝胶和蔗糖用量。

1. 材料与方法

1.1 实验材料

本研究所用材料为巴西橡胶树无性系热研 7-33-97 成熟体细胞次生双子叶胚状体，参照 Hua et al（2010）的方法培养获得。

1.2 实验药品和容器

配制改良 MS 培养基大量元素、微量元素、铁盐所需的药品和蔗糖，采购于广州化学试剂厂。配制改良 MS 培养基有机成分和植物激素所需的药品，采购于上海生物工程技术有限公司。植物凝胶采购于 Sigma-Aldrich 公司。

锥形透气试管根据专利《一种锥形透气试管》进行定制（申请号：201320062994.0）。

1.3 实验方法

将直径 1 cm 以上的成熟次生双子叶胚状体，接种到装有植株再生培养基的锥形透气试管中，28 ℃光照培养，光周期为 16 小时。接种 45 天后统计植株再生和植株生长情况。

植株再生培养基为添加 0.23 μmol•L^{-1} KT，0.11 μmol•L^{-1} IAA 和 8.7 μmol•L^{-1} GA3 的

MS 培养基。植物凝胶添加量分别为 0 g•L^{-1}～4 g•L^{-1}；蔗糖添加量分别为 0 g•L^{-1}～80 g•L^{-1}。每个实验 3 次重复，每重复接种 21 管，每管接种 1 个胚状体。

1.4 实验数据统计方法

植株再生频率和生长情况，通过植株再生指标（抽芽率、生根率和抽芽生根率）和再生植株生长指标（5 cm 以上植株率、根长 5 cm 以上植株率和带叶植株率）来评价。抽芽率是指抽芽体胚数占接种总体胚数的百分率；生根率是指生根体胚数占接种总体胚数的百分率；抽芽生根率是指既抽芽又生根体胚数占接种总体胚数的百分率，5 cm 以上植株率是指株高 5 cm 以上植株数占接种总体胚数的百分率；根长 5 cm 以上植株率是指根长 5 cm 以上植株数占接种总体胚数的百分率；带叶植株率是指再生植株中带叶的植株数占接种总体胚数的百分率；5 cm 以上带叶植株率是指株高 5 cm 以上植株中带叶植株数占接种总体胚数的百分率。

实验结果采用 SPSS 的 ducan 法进行差异性分析。

2. 结果与分析

2.1 植物凝胶对橡胶树胚状体植株再生和生长的影响

对于植株再生而言，培养基中添加不同用量的植物凝胶，显著影响胚状体植株再生。在添加 1-4 g•L^{-1} 植物凝胶的培养基中，橡胶树胚状体的抽芽率、生根率和抽芽生根率均显著高于添加 0-0.5 g•L^{-1} 植物凝胶的培养基；而且，在添加 1-4 g•L^{-1} 植物凝胶的不同培养基中，其抽芽率、生根率和抽芽生根率没有显著差异。根据同样效果最低浓度原则，橡胶树胚状体植株再生培养基植物凝胶的添加量应以 1 g•L^{-1} 为宜，在该浓度下，橡胶树胚状体培养物抽芽率 86.4%、生根率 97.4%、抽芽生根率 86.4%，均处于较高水平，说明该浓度利于橡胶树胚状体植株的再生（表 1 和图 1）。

对于再生植株生长而言，培养基中添加不同用量的植物凝胶，显著影响再生植株的生长。在添加 1-4 g•L^{-1} 植物凝胶的培养基中，5 cm 以上植株率和带叶植株率显著高于添加 0-0.5 g•L^{-1} 植物凝胶的培养基，表明植物凝胶用量在 1-4 g•L^{-1} 时，有利于再生植株的生长。但是，过高植物凝胶用量也影响植株生长，如植物凝胶添加量 1 g•L^{-1} 时，5 cm 以上植株率最高，达到了 53±9.4%；当植物凝胶用量达 4 g•L^{-1} 时，培养物表现为营养不良、植株矮小、叶片过早出现黄化和脱落等症状，植株生长全面受到抑制，5 cm 以上植株率为 0（图 1.F）。综合株高 5 cm 以上植株率、根长 5 cm 以上植株率和带叶植株率三个参数，培养基中添加 1 g•L^{-1} 植物凝胶，最利于橡胶树胚状体再生植株的生长。

综合体胚植株再生和再生植株生长的各种指标数据，橡胶树体胚植株再生培养基中添加植物凝胶浓度 1 g•L^{-1} 时，既有利于植株再生，又有利于再生植株的生长。

表 1 植物凝胶对体胚植株再生和再生植株生长的影响

Table 1 Effects of Phytagel on the regeneration of somatic embryos and growth of regenerated plants

处理 Treatment (g•L-1)	体胚植株再生指标 Regeneration index of somatic embryos			再生植株生长指标 Growth index of Regenerated plants		
	抽芽率 Germination rate(%)	长根率 Rooting rate(%)	抽芽长根率 Germination and rooting rate(%)	5 cm 以上植株率 Plants rate (height > 5 cm) (%)	根长 5 cm 以上植株率 Plants rate (length > 5 cm) (%)	带叶植株率 Plant with leave rate(%)
0	(16.8±7.9)[c]	(26.7±7.8)[c]	(16.8±7.9)[d]	(7.3±7.1)[de]	(16.8±7.9)[d]	(9.7±4)[d]
0.3	(69.8±15.7)[bc]	(77±16.2)[b]	(67.4±15.9)[bc]	(46.1±20.1)[ab]	(72±12.3)[b]	(24.6±18.7)[cd]
0.5	(61.9±18)[cd]	(88.1±10.9)[ab]	(54.8±18)[c]	(23.8±14.9)[cd]	(71.4±14.3)[b]	(38.1±8.2)[bc]
1	(86.4±5.7)[ab]	(97.4±4.4)[a]	(86.4±5.7)[ab]	(53±9.4)[a]	(95.1±4.3)[a]	(81.7±3)[a]
2	(76.9±7.7)[ab]	(97.4±4.4)[a]	(76.9±7.7)[ab]	(30.8±7.7)[bc]	(97.4±4.4)[a]	(53.8±13.3)[b]
4	(92.7±0.3)[a]	(100±0)[a]	(92.7±0.3)[a]	0	(97.6±4.1)[a]	(73.4±10.3)[a]

注：同列数据后小写字母表示差异显著性（P<0.05）。

Note: Letters represent significant difference (P<0.05).

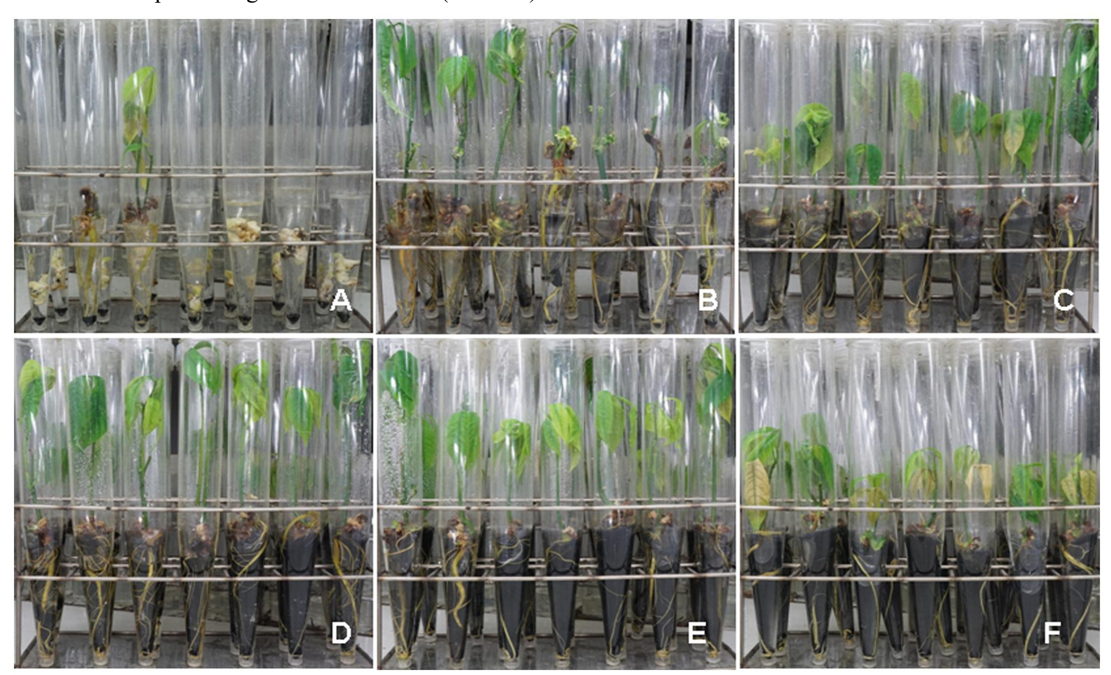


图 1 植物凝胶对体胚植株再生和再生植株生长的影响

Fig.1 Effects of Phytagel on the regeneration of somatic embryos and growth of regenerated plants

A：0 g•L^{-1}；B：0.3 g•L^{-1}；C：0.5 g•L^{-1}；D：1 g•L^{-1}；E：2 g•L^{-1}；F：4 g•L^{-1}

2.2 蔗糖对橡胶树胚状体植株再生和生长的影响

对于植株再生而言，添加蔗糖的培养基，不论是胚状体植株再生、还是再生植株生长，均明显优于无蔗糖培养基。但通过统计分析发现，在本实验中，在添加蔗糖 5-80 g•L^{-1} 的不同培养基中，其培养物的抽芽率、生根率、抽芽生根率均没有显著差别（表 2），表明在本实验范围内，在含蔗糖培养基中，蔗糖添加量对橡胶树胚状体植株再生频率没有显著影响。

表 2 蔗糖对体胚植株再生和再生植株生长的影响

Table 2 Effects of sucrose on the regeneration of somatic embryos and growth of regenerated plants

处理 Treatment (g•L^{-1})	体胚植株再生指标 Regeneration index of somatic embryos			再生植株生长指标 Growth index of Regenerated plants		
	抽芽率 Germination rate (%)	长根率 Rooting rate (%)	抽芽长根率 Germination and rooting rate (%)	5 cm 以上植株率 Plants rate (height > 5 cm) (%)	根长 5 cm 以上植株率 Plants rate (length > 5 cm) (%)	带叶植株率 Plant with leave rate (%)
0	(63.2±8.8)^{a}	(48.9±11.5)^{b}	(31.9±9.1)^{b}	0	(12.1±3.8)^{c}	(2.4±4.1)^{bc}
5	(79.4±8.9)^{a}	(92.3±0.6)^{a}	(72.1±10.9)^{a}	(2.4±4.1)^{c}	(80±10.5)^{a}	(12.9±4.6)^{bc}
10	(65.4±13.9)^{a}	(90.3±10.9)^{a}	(65.4±13.9)^{a}	(9.9±3.8)^{c}	(80.2±10.8)^{a}	(22.5±7.8)^{b}
20	(81±10.9)^{a}	(92.9±7.1)^{a}	(78.6±14.3)^{a}	(35.7±7.1)^{b}	(88.1±10.9)^{a}	(66.7±18)^{a}
40	(71.4±7.1)^{a}	(92.9±0)^{a}	(71.4±7.1)^{a}	(40.5±10.9)^{b}	(90.5±4.1)^{a}	(54.8±8.2)^{a}
80	(79.5±4.4)^{a}	(97.4±4.4)^{a}	(79.5±4.4)^{a}	(59±8.9)^{a}	(87.2±11.8)^{a}	(17.9±17.8)^{bc}

注：同列数据后小写字母表示差异显著性（$p<0.05$）。

Note: The letters represent significant difference at 5% level.

对于再生植株生长而言，培养基中添加不同用量的蔗糖，显著影响胚状体再生植株的生长（表 2）。首先，随着蔗糖添加量的增加，5 cm 以上植株率有显著性的增加，在蔗糖 80 g•L^{-1} 时达到了最大值 59%；其次，根长 5 cm 以上植株率在蔗糖 10 g•L^{-1} 达到峰值，且在 10-80 g•L^{-1} 范围内无明显差异；第三，带叶植株率随着蔗糖添加量的增加先升高再下降，其峰值为 20-40 g•L^{-1}。此外，在植株外观形态上，当蔗糖较低时，表现为植株矮小、根系生长和叶片发育均受显著影响，并表现出营养不良、叶片过早出现黄化、脱落等症状(图 2.a，b，c)；浓度过高则表现为叶片生长发育受抑制（图 2.f）。上述结果表明，蔗糖作为培养基主要的营养成分，在合适的浓度范围内可以促进橡胶树胚状体再生植株的生长，表现在促进株高增加、根系生长和叶片发育三个方面。

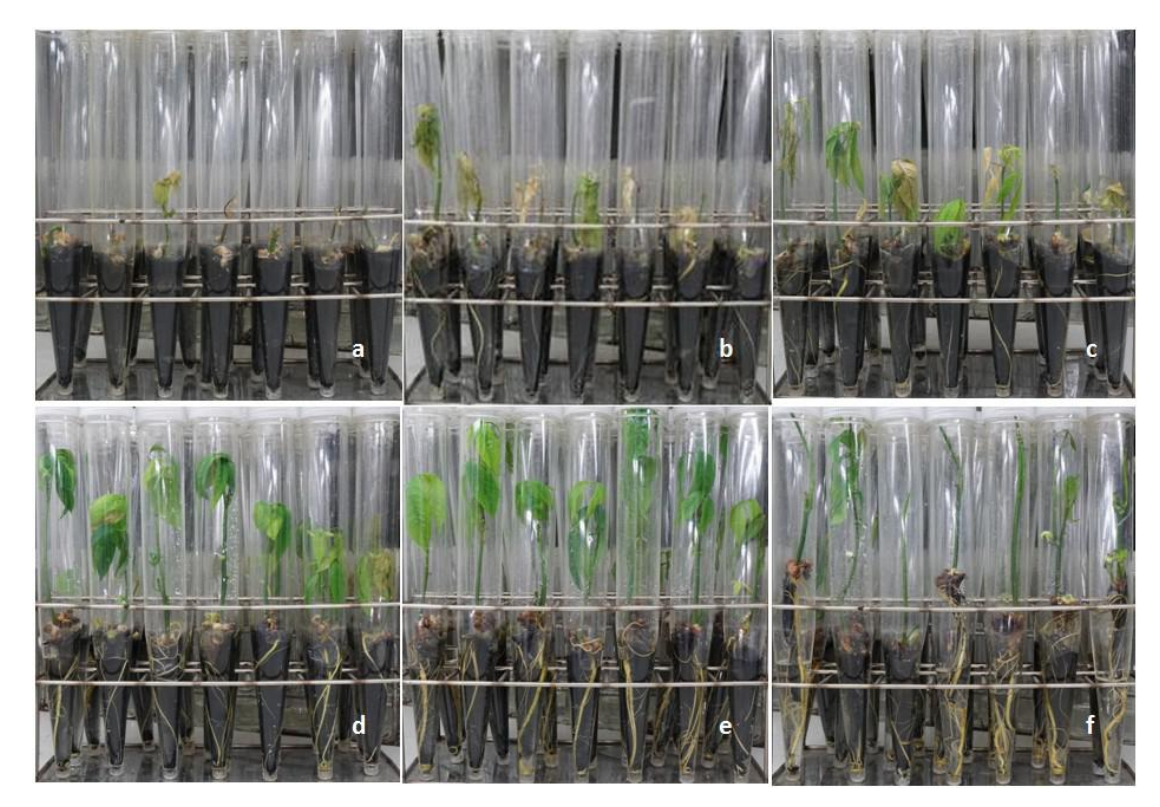


图 2 蔗糖对体胚植株再生和再生植株生长的影响

Fig.2 Effects of sucrose on the regeneration of somatic embryos and growth of regenerated plants

a: 0 g•L-1；b: 5 g•L-1；c: 10 g•L-1；d: 20 g•L-1；e: 40 g•L-1；f: 80 g•L-1

为了筛选最为适宜橡胶树胚状体再生和植株生长的蔗糖用量，本研究对 20-80 g•L-1 蔗糖用量进行了细化研究（表 3），与上述实验结果相似，低蔗糖时（20-30 g•L-1）促进植株抽叶但抑制茎秆伸长，高蔗糖时（70-80 g•L-1）显著抑制抽叶但促进茎段伸长。从体胚植株再生和植株生长指标具体分析来看，5 cm 以上植株率在 50 g•L-1 达到最大值 57.6%，且 5 cm 以上带叶植株率在 50 g•L-1 也达到最大值 46.3%，同时，从外观来看，在 50 g•L-1 时植株茎干和根都较为粗壮（图 3），故蔗糖最适用量为 50 g•L-1。

表 3 蔗糖用量细化实验

Table 3 Sucrose dosage refinement experiment

处理 Treatment ($g•L^{-1}$)	体胚植株再生指标 Regeneration index of somatic embryos		
	抽芽率 Germination rate(%)	长根率 Rooting rate(%)	抽芽长根率 Germination and rooting rate(%)
20	(90.5±9.5)[a]	(92.1±9.9)[a]	(84.1±5.5)[a]
30	(84±9.8)[a]	(92±5.4)[a]	(80.8±8)[a]
40	(78.6±9.9)[a]	(98.2±3)[a]	(78.6±9.9)[a]
50	(80.5±4)[a]	(95.1±4.8)[a]	(80.5±4)[a]
60	(82.5±7.3)[a]	(93.7±2.7)[a]	(76.2±17.2)[a]
70	(79.4±7.3)[a]	(96.8±2.7)[a]	(79.4±7.3)[a]
80	(81±9.5)[a]	(96.8±5.5)[a]	(81±9.5)[a]

处理 Treatment (g•L^{-1})	再生植株生长指标 Growth index of Regenerated plants			
	5 cm 以上植株率 Plants rate (height > 5 cm)(%)	根长 5 cm 以上植株率 Plants rate (length > 5 cm)(%)	带叶植株率 Plant with leave rate(%)	5 cm 以上带叶植株率 Plants with leave rate (height > 5 cm)(%)
20	(38.1±4.8)^{b}	(82.6±7.7)^{a}	(68.3±16.7)^{a}	(34.9±9.9)^{ab}
30	(40.2±4.5)^{ab}	(84±11.3)^{a}	(59.7±7.1)^{ab}	(37±6.5)^{ab}
40	(49.9±9.2)^{ab}	(84.8±8.5)^{a}	(51.7±1.5)^{ab}	(38.1±5.9)^{ab}
50	(57.6±5.4)^{a}	(84.7±15.8)^{a}	(54.6±15.3)^{ab}	(46.3±12.3)^{a}
60	(52.4±9.5)^{ab}	(77.9±3.6)^{a}	(54±12)^{ab}	(38.1±17.2)^{ab}
70	(52.4±12.6)^{ab}	(83.5±11.7)^{a}	(39.7±5.5)^{bc}	(36.5±7.3)^{ab}
80	(47.6±12.6)^{ab}	(69±4.1)^{a}	(28.6±8.2)^{c}	(20.6±5.5)^{b}

注：同列数据后小写字母表示差异显著性（$p<0.05$）。

Note: The letters represent significant difference at 5% level.



图 3 蔗糖用量细化实验

Fig.3 Sucrose dosage refinement experiment

X：5 cm 以下带叶植株（20 g•L^{-1}）；Y：5 cm 以上带叶植株（50 g•L^{-1}）；

Z：5 cm 以上光杆植株（80 g•L^{-1}）

X: Plants with leave(height < 5 cm)(20 g•L^{-1}); Y: Plants with leave(height > 5 cm)(50 g•L^{-1});

Z: Plants without leave(height > 5 cm)(80 g•L^{-1})

3. 结论与讨论

3.1 植物凝胶显著影响胚状体植株再生和再生植株的生长

在植物组织培养中，诱导植株再生需要半固相培养基支撑培养物，凝胶化的培养基可提供半固相培养基，目前有许多种凝固剂可以使培养基凝胶化。植物凝胶是一种比较好的凝固剂，具有通气性好、凝固温度低、含杂质少、不易发生玻璃化等优点，在许多植物组织培养中的培养效果都优于琼脂，然而植物凝胶的价格昂贵（张巧等，2010）。在橡胶树体胚植株再生研究中，Gelrite、Phytagel 和 Agar 等用于植株再生均有报道，他们用量有所不同，但是，对植株再生频率影响非常大（表 3），其中 Hua et al（2010）在植株再生培养基需中添加 2.2 g•L^{-1} 植物凝胶，其植株再生频率达 85.4%，在已有报道中最高（表 3）。本研究对植物凝胶用量进行详细研究，发现植物凝胶添加量为 1 g•L^{-1} 时，植株再生频率达到最大值(86%)，较 Hua et al（2010）植株再生频率略高，是目前再生频率最高的报道。同时，此用量下，5 cm 以上植株率和带叶植株率也显著高于 2.0 g•L^{-1} 和其他处理，说明了高于最适浓度的植物凝胶

在一定程度上会抑制植株再生和植株生长。再者，降低植物凝胶用量，也有助于降低种苗的生产成本。

表 3.以往橡胶树胚状体植株再生培养基凝固剂和蔗糖使用情况及植株再生率

Table3 Effects of coagulant and sucrose on plant regeneration in previous reports

凝固剂 Coagulants	凝固剂浓度 g•L^{-1} Coagulants concentrations	蔗糖浓度 g•L^{-1} Sucrose Concentrations	植株再生频率% regeneration rate	文献 Literature
吉兰糖胶 Gelrite	2.4	60	-	刘桂珍和陈正华，1999 LIU GZ＆CHEN ZH, 1999
植物凝胶 Phytagel	2.2	40-60	55.0	谭德冠，2011 TAN DG, 2011
植物凝胶 Phytagel	2.0	45.6	39.0	Etienne et al,1997
植物凝胶 Phytagel	2.2	50	85.4	Hua et al,2010
植物凝胶 Phytagel	1.0	40	86.4	本实验 This experiment
琼脂 Agar	6.0	50	1.9	田郎等，1993 TIAN L et al,1993
琼脂 Agar	6.0	50	11.9	梁国平和肖三元，2004 LIANG GP＆XIAO SY, 2004
琼脂 Agar	5.0	60	75.4	管艳等，2015 GUAN Y et al,2015
琼脂 Agar	7.0	68	31.0	Lardet et al,2007:2009
琼脂 Agar	7.0	70	39.1	黄德贵等，1982 HUANG DG et al,1982

3.2 蔗糖在胚状体植株再生和再生植株生长中的作用

碳水化合物在植物组织培养中起着重要作用，既作为一种能源和碳源，也是一种渗透剂，被用于植物组织培养的碳水化合物包括各种糖类，经比较蔗糖是最佳碳源，葡萄糖、麦芽糖和棉子糖次之，果糖较差，甘露糖和乳糖最差（丁世萍等，1998）。蔗糖浓度对橡胶树愈伤组织和胚状体诱导的影响有过报道（王泽云等，1980；陈正华等，1978），蔗糖对胚状体植株再生和植株生长的影响尚无报道。本研究发现，蔗糖添加量并不影响胚状体再生效率，比如从 5-80 g•L^{-1} 的抽芽率、长根率、抽芽长根率和根长 5 cm 以上植株率都没有显著性的差别，因此，以往报道中不同出苗率并非因为蔗糖用量引起的（表 3）；然而，5 cm 以上植株率和带叶植株率却有显著性的差别，表明蔗糖添加量对橡胶树胚状体植株再生的株高和抽叶影响比较大。低浓度的蔗糖添加量（10 g•L^{-1} 以下）既不利于植株增高也不利于抽叶，推断添加量太低时提供的碳水化合物不能满足橡胶树胚状体生长的需要；随着蔗糖添加量的增加植株株高显著性增高，但是，叶片数量逐渐减少，80 g•L^{-1} 蔗糖用量时，株高达到最高，但是，带叶植株率达到最低，推断可能是培养基中丰富的蔗糖在一定程度上代替了叶片的光合产物，从而无需叶片的发育来提供植株生长所需能量，因此，蔗糖用量是平衡株高和叶片发育的关键因素，为此，本研究对蔗糖用量进行了细化实验，发现橡胶树体胚植株再生培养基中蔗糖最合适用量为 50 g•L^{-1}，在此用量下 5 cm 以上植株率在 50 g•L^{-1} 达到最大值 57.6%，且

5 cm 以上带叶植株率在 50 g•L-1 也达到最大值 46.3%，同时，从外观来看，在 50 g•L-1 时植株茎干和根都较为粗壮，故蔗糖最适用量为 50 g•L-1。

参考文献：

BECWAR MR, PULLMAN GS, 1995. Somatic embryogenesis in Loblolly pine [J]. JAIN S, GUPTA P, NEWTON RE. Somatic embryogenesis in woody plants [M]. London: Kluwer Academic Publishers: 44-46, 287-301.

CHEN XT, WANG ZY, WU HD, et al, 2002. A new planting material of *Hevea brasiliensis* self-rooting juvenile type clone [J]. Chin J Trop Crop, 23(1): 19-23. ［陈雄庭，王泽云，吴胡蝶等．２００２．橡胶树新种植材料—自根幼态无性系［Ｊ］．热带作物学报，２３（１）：１９－２３.］

CHEN ZH, CHEN FZ, QIAN FC, et al, 1978. Induction of pollen plants of *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. [J]. Acta Genet Sin, 5(2): 99-107.［陈正华，陈发祖，钱长发，等，１９７８．三叶橡胶花粉植株的诱导［Ｊ］．遗传学报，５（２）：９９－１０７.］

DING SP, YAN JQ, JI DF, 1998. Effect of sugar sources on plant tissue culture [J]. Chin Bull Bot, 15(6): 42-46. ［丁世萍，严菊强，季道藩，１９９８．糖类在植株组织培养中的效应［Ｊ］．植物学通报，１５（６）：４２－４６.］

ETIENNE H, LARTAUD M, CARRON MP, et al, 1997. Use of calcium to optimize long-term proliferation of friable embryogenic calluses and plant regeneration in *Hevea brasiliensis* (Muell. Arg.) [J]. J Exp Bot, 48(306): 129-137.

GUAN Y, LI L, LIANG GP, et al, 2015. Comparison of Callus Induction, Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Different Clones of *Hevea brasiliensis* Anther [J]. Chin Agr Sci Bull, 31(4): 40-44.［管艳，李玲，梁国平，等，２０１５．不同品种橡胶树花药愈伤组织诱导、分化及植株再生的比较［Ｊ］．中国农学通报，３１（４）：４０－４４.］

HUA YW, HUANG HS, HUANG TD, et al, 2007-10-25. Rapid propagation of *Hevea brasiliensis* self-rooting juvenile-type clone with embryos. China, Patent (200710184892.5).［华玉伟，黄华孙，黄天带，等，２００７-１０-２５．利用胚状体快速繁殖巴西橡胶树自根幼态无性系的方法．中国，发明专利（２００７１０１８４８９２．５）.］

HUA YW, HUANG TD, HUANG HS, 2010. Micropropagation of self-rooting juvenile clones by secondary somatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis* [J]. Plant Breed, 129(2): 202-207.

HUANG DG, CHEN MY, LV ML, et al, 1982. Study on Anther Culture in Rubber Tree [J]. Fujian Sci & Technol Trop Crop, 1-11.［黄德贵，陈曼雅，吕美娜，等，１９８２．巴西橡胶花药培养的研究［Ｊ］．福建热作科技，１－１１.］

LAI ZX, CHEN ZG, 2002. Plant regeneration from embryogenic cell suspensions via somatic embryogenesis of longan (*dimocarpus longan* lour) [J]. Chin J Appl Environ Biol, 8(5): 485-491.［赖钟雄，陈振光，２００２.龙眼胚性细胞悬浮培养再生植株［Ｊ］．应用与环境生物学报，８（５）：４８５－４９１.］

LARDET L, DESSAILLLLY F, CARRON MP, et al, 2009. Secondary Somatic Embryogenesis in *Hevea brasiliensis* (Muell.Arg.): An Alternative Process for Long-term Somatic Embryogenesis [J]. J Rubber Res, 12(4): 215-228.

LARDET L, MARTIN F, DESSAILLY F, et al, 2007. Effect of exogenous calcium on post-thaw growth recovery and subsequent plant regeneration of cryopreserved embryogenic calli of *Hevea brasiliensis* (Muell.Arg.) [J]. Plant Cell Rep, 26(5): 559-569.

LI XY, HUANG FH, GBUR Jr EE, 1998. Effect of basal medium, growth regulars and phytagel concentration on initiation of embryogenic cultures from immature zygotic embryos of loblolly pine [J]. Plant Cell Rep, 17(4): 298-301.

LIANG GP, XIAO SY, 2004. Tissue Culture of Rubber Anther in Vitro and Inducement of Seedling [J]. Trop Agr

Sci & Technol, 27(1): 8-10.［梁国平，肖三元，２００４．橡胶树花药离体培养及完整植株的诱导［Ｊ］．热带农业科技，２７（１）：８－１０．］

LIU GZ, CHEN ZH, 1999. Embrogensis and plantlet regeneration of *Hevea brasiliensis* with suspension culture [J]. Chin J Trop Crop, 20(4): 1-5.［刘桂珍，陈正华，１９９９．巴西橡胶悬浮细胞培养胚胎发生与植株再生［Ｊ］．热带作物学报　２０（４）：１－５．］

TAN DG, 2011. Somatic embryogenesis improvement and laticifer differentiation in anther culture of *Hevea brasiliensis* [D]. Hai Kou: Hainan University: Thesis for Doctor's Degree.［谭德冠，２０１１．巴西橡胶树体胚发生的改良及乳管分化研究［Ｄ］．海口：海南大学博士学位论文．］

TIAN L, HUANG XF, LIANG GP, et al, 1993. Induction of anther plant in rubber tree [J]. YUNNAN TROP AGR SCI & TECHNOL, 16(4): 1-4.［田郎，黄先甫，梁国平，等，１９９３．巴西橡胶树花药植株的诱导［Ｊ］．云南热作科技，１６（４）：１－４．］

WANG ZY, CHEN XT, WU HD, 2001. Rubber plant new planting material-somatic embryo plant [J]. Chin J Trop Agr, 6(94): 11-15.［王泽云，陈雄庭，吴胡蝶，２００１．橡胶树新型种植材料—体胚植株［Ｊ］．热带农业科学，６（９４）：１１－１５］

WANG ZY, CENG XS, CHEN CQ, et al, 1980. Induction of Rubber Plantlets from Anther of *Hevea brasiliensis* Muell.Arg. in Vitro [J]. Chin J Trop Crop, 1(1): 16-26.［王泽云，曾宪松，陈传琴，等，１９８０．用离体花药诱导巴西橡胶植株的研究［Ｊ］．热带作物学报，１（１）：１６－２６．］

YUAN SX, LIU YM, FANG ZY, et al, 2010. Plant Regeneration from Microspore-derived Embryos in Cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) and Broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) [J]. Chin Bull Bot, 45(2): 226-232.［袁素霞，刘玉梅，方智远，等，２０１０．结球甘蓝和青花菜小孢子胚植株再生［Ｊ］．植物学报，４５（２）：２２６－２３２．］

ZHANG Q, WANG JE, LIN J, et al, 2010. Effects of Different Gelling Agents on the Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration in Upland Cotton [J]. Cotton sci, 22(1): 3-9.［张巧，汪静儿，林君，等，２０１０．不同凝固剂对陆地棉体细胞胚胎发生和植株再生的影响［Ｊ］．棉花学报，２２（１）：３－９．］